Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.4, Winter 2021, P. 663-678
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹، ص. ۶۷۸-۶۶۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

اثر غلظت و زمان کاربرد اسید هیومیک بر صفات مورفوفیزیولوژیک اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)

محبوبه ناصری[1]*- حسین آروئی[2]- مریم محمدی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۳

چکیده

اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی، بدون اثرات مخرب زیست‌محیطی می‌تواند در جهت تغذیه صحیح سبزی‌ها و بهبود کمی و کیفی آن استفاده شود. در همین راستا آزمایش حاضر به منظور بررسی کاربرد غلظت‌های مختلف اسید هیومیک در زمان‌های مختلف و اثرات آن بر شاخص‌های کمی و کیفی اسفناج به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تربت‌حیدریه انجام شد. تیمارها شامل سه غلظت صفر، ۳ و ۶ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک و دو زمان کاربرد یک هفته و دو هفته کاربرد آن بود. با کاربرد ۳ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک صفات مورفولوژیک گیاه اسفناج شامل تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ و ارتفاع بوته به ترتیب ۲۱، ۵۹، ۱۳۴ و ۷۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (غلظت صفر) نشان دادند. همچنین در این غلظت صفات فیزیولوژیک شامل شاخص کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b، سطح برگ، تاج‌پوشش، کاروتنوئید و زیست‌توده به ترتیب ۴۸، ۵۹، ۵۶، ۴۵، ۱۰۸، ۳۱ و ۲۷۵ درصد افزایش نسبت به شاهد (غلظت صفر) داشتند. بر اساس نتایج بین غلظت ۳ و ۶ میلی‌لیتر اسید هیومیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در بیشتر صفات زمان کاربرد دو هفته نسبت به یک هفته از مقادیر بالاتری برخوردار بود بطوریکه مقدار زیست‌توده اسفناج در زمان کاربرد دو هفته ۱۵۶ و در زمان کاربرد یک هفته ۷۴ میلی‌گرم بود. بر اساس نتایج آزمایش حاضر کاربرد اسید هیومیک در غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر می‌تواند باعث بهبود صفات مورفوفیزیولوژیک و تولید گیاه اسفناج شود.

واژه‌های کلیدی: کاروتنوئید، کلروفیل، مواد آلی، هوموس

مقدمه

اسفناج[4] از خانواده چغندر[5] یک سبزی یکساله و روز بلند است که به دلیل داشتن انواع مواد معدنی و ویتامین‌ها جایگاه ویژه‌ای در تغذیه انسان دارد و به صورت تازه و یا فرآوری شده مصرف می‌شود (۱۷). کشت و پرورش این گیاه در ایران سابقه چند هزار ساله دارد و بر این اساس ایران را جایگاه و منشأ اصلی اسفناج در دنیا می‌دانند. از ترکیبات شیمیایی موجود در اسفناج می‌توان به فلاونوئیدهای مختلف، ترکیبات فنلی، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها (A, E, C, K) اشاره کرد (۱۷).

رشد و نمو گیاهان تحت تاثیر ژنتیک، شرایط محیطی، فصل رشد، مواد غذایی، خاک، روش برداشت، دما، شدت و کیفیت نور تغییر می‌کند. ازمیان فاکتورهای ذکر شده مواد غذایی خاک تاثیر مهمی در رشد نمو و عملکرد گیاه دارد. امروزه مصرف مواد آلی به عنوان کود به دلیل هزینه بالا و دسترسی محدود چندان رایج نبوده و نیازهای عمده غذایی گیاهان از طریق کودهای شیمیایی تامین می‌شود که این امر منجر به بروز مشکلات زیست‌محیطی و به مرور زمان کاهش عملکرد گیاهان می‌شود. از طرفی به دلیل سطح برگ زیاد اسفناج، عملکرد آن به شدت تحت تاثیر کود نیتروژن است. اما مصرف زیاد کودهای نیتروژن منجر به تجمع نیترات در این گیاه شده و مصرف آن برای سلامتی انسان ضرر دارد که این نیترات در بدن انسان تبدیل به نیتروز آمین شده که در ایجاد سرطان دستگاه گوارش موثر است (۲۲). امروزه استفاده از کودهای آلی و بیولوژیک همراه با کودهای شیمیایی مطرح می‌باشد که موجب بهبود ساختمان و ظرفیت تبادل کاتیونی و ظرفیت نگهداری و رطوبت خاک می‌گردد. در همین ارتباط اسید هیومیک یک ترکیب طبیعی آلی است و حاوی ۵۰ تا ۹۰ درصد مواد ارگانیک می‌باشد (۷). مواد هیومیکی شامل مخلوطی از ترکیبات آلی مختلف هستند که از باقیمانده گیاهان و حیوانات حاصل

---

۱ و ۳- به‌ترتیب استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی رشته گیاهان دارویی و معطر، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه تربت‌حیدریه
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: M.naseri@torbath.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i4.86144
4- *Spinacia olerace* L.
5- Chenopodiacea

می‌شوند (۱۵). اسید هیومیک در اثر تجزیه مواد آلی، به ویژه مواد با منشاء گیاهی به وجود می‌آید و در خاک، زغال سنگ و پیت یافت می‌شود، اسید هیومیک با وزن ملکولی ۳۰ تا ۳۰۰ هزار دالتون باعث تشکیل کمپلکس پایدار و نامحلول با عناصر کم مصرف می‌شود (۲۷). اسید هیومیک حاصل از تجزیه بیولوژی و شیمیایی گیاهان و جانوران است (۱۶). اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی، بدون اثرات مخرب زیست محیطی همراه با آهن می‌توانند در جهت رفع برخی از کمبودهای عناصر غذایی در اسفناج مؤثر واقع شود. از مزایای مهم اسید هیومیک میتوان به کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود عناصر غذایی اشاره کرد که سبب افزایش طول و وزن ریشه و آغازش ریشه‌های جانبی می‌شود (۱). در یک مطالعه کاربرد اسید هیومیک به میزان ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک موجب افزایش طول هیپوکوتیل، قطر ساقه، طول ساقه، وزن خشک، میزان عناصر غذایی و عملکرد گیاه فلفل[1] شد. در مطالعه دیگری، مقادیر ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک بر کیلوگرم خاک سبب افزایش عناصر پر مصرف و کم مصرف در اندام‌های گیاهان گوجه فرنگی شد (۲۸). در تحقیقی فاطمی و همکاران (۱۰) مقادیر مختلف اسید هیومیک بر عملکرد و اسانس گیاه دارویی ریحان را بررسی کردند. در این تحقیق اسید هیومیک در ۵ سطح ۰، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر در ۸ مرحله از طریق کود آبیاری اعمال شد. نتایج نشان داد بالاترین عملکرد، تعداد گره، بیومس، طول ریشه، وزن خشک و تر برگ مربوط به تیمار ۱۵ گرم در لیتر بود و کمترین مربوط به تیمار شاهد بود اما کلروفیل و اسانس تحت تأثیر مقادیر اسید هیومیک قرار نگرفت و تیمارها تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند اگر هدف تولید سبزی باشد اسید هیومیک باعث بالا رفتن عملکرد سبزی ریحان می‌شود.

در خصوص نحوه اثر اسید هیومیک، گزارش‌های متعددی وجود دارد، اما می‌توان اثر آن را به دو دسته تقسیم کرد: اثر مستقیم آن به عنوان یک ترکیب شبه هورمونی (۱۸) و اثر غیرمستقیم آن که به صورت افزایش جذب عناصر غذایی از طریق خاصیت کلات‌کنندگی و احیاکنندگی و حفظ نفوذپذیری غشاء (۵ و ۸) افزایش متابولیسم ریزجانداران در خاک، بهبود وضعیت فیزیکی خاک و افزایش رشد ریشه و ساقه است (۵). در میان اثرهای توضیح داده شده، اسید هیومیک در گونه‌های گیاهی مختلف قادر است که فعالیت ATPase-PM ریشه را تحریک کند و نسبت جذب نیترات در ریشه‌ها را افزایش دهد. رستمی و همکاران (۲۱) اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نعناع را در شرایط تنش خشکی بررسی کردند. به طورکلی تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار صفات مورفولوژیکی نعناع سبز شد. محلول‌پاشی اسید هیومیک به ویژه ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در افزایش شاخص‌های رشد آن داشت.

در سبزیجات برگی برای به دست آوردن عملکرد بیشتر از کودهای شیمیایی استفاده می‌شود. استفاده زیاد از کودهای شیمیایی در تولید سبزی‌ها به تنهایی اثرات زیان بار روی محیط زیست و سلامت انسان‌ها دارد. در مقابل کودهای آلی با تولید هوموس عوارض نامطلوب کودهای شیمیایی را کاهش داده، منجر به کاهش نیترات در اندام‌های قابل مصرف سبزی‌های برگی شده و کارایی مصرف کود را افزایش می‌دهند (۱۱). استفاده از کودهای آلی در تولید سبزی منجر به کاهش نیترات در اندام‌های قابل مصرف سبزی‌های برگی می‌شود. با توجه به مضرات استفاده از کودهای شیمیایی در سبزی‌ها و با توجه به اینکه سبزی‌های برگی مانند اسفناج دوره رشدی کوتاه دارد و احتمال تجمع کودهای شیمیایی مانند ازت در این سبزی وجود دارد این آزمایش به منظور بررسی کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک در آب آبیاری و در زمان‌های مختلف و بررسی اثرات آن بر شاخص‌های رشد و تولید گیاه اسفناج انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در بهار سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تربت‌حیدریه انجام شد. ابتدا خاک بستر تولید نشاء شامل ماسه، پیت و کوکوپیت بود تهیه شد که به صورت حجمی (۱:۱:۱) با هم مخلوط شدند. سپس تعداد ۵ بذر اسفناج توده بومی تربت حیدریه در گلدان‌هایی با اندازه با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر کاشته شد. جوانه‌زنی بذرها ۴ روز طول کشید. پس از اطمینان از جوانه‌زنی، تعداد بوته‌ها به ۳ گیاه در هر گلدان تنک شد. میانگین دمای روزانه گلخانه در زمان رشد گیاه ۲±۲۵ و میانگین دمای شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین رطوبت نسبی ۶۰ درصد و میانگین شدت نور ۴۳۴ لوکس بود. پس از این که گیاهچه‌ها در گلدان‌ها استقرار یافتند در مرحله ۴ برگی، با اسید هیومیک در سه غلظت صفر (شاهد)، ۳ و ۶ میلی‌لیتر در لیتر در فواصل زمانی هر هفته یکبار، دو هفته یکبار همراه با آب آبیاری بوسیله بشر با حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان تیمار شدند. آبیاری نیز هر سه روز یکبار با حجم ۲۰۰ میلی لیتر در همه تیمارها انجام شد. کود هیومیک مورد استفاده متعلق به شرکت دان‌نهال سبز ساخت کشور ایتالیا، محتوی ۲۴ درصد اسید هیومیک و ۳ درصد اسید فولیک و عناصر پتاسیم به میزان ۲ درصد بود. ۵ هفته پس از اعمال تیمارها صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

در نهایت پس از شش هفته پس از کاشت بذرها شاخص‌های

1- *Capsicum annuum* L.

رشد گیاه شامل تعداد برگ (از طریق شمارش تعداد برگ‌های موجود روی گیاه) طول و عرض برگ، سطح برگ، تاج پوشش، ارتفاع (توسط خط‌کش از سطح خاک گلدان تا انتهای ساقه گیاه) و شاخص کلروفیل (با کلروفیل متر مدل CCM200، کلروفیل a، b و کارتنوئید و وزن خشک هر بوته تعیین شد. مقدار کلروفیل a و b در نمونه‌های برگ بر مبنای روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. برای این منظور سه برگ از قسمت پایین، میانی و انتهای هر گیاه انتخاب و روی هر برگ نیز سه قسمت ابتدا، میانه و انتهای برگ به‌طور جداگانه اندازه‌گیری شد. از هر نمونه برگ ۵۰ میلی‌گرم توزین شد و در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۸ درصد قرار داده شدند. نمونه‌ها در سرعت ۱۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مقدار کلروفیل a در طیف جذبی در طول موج ۶۶۶ نانومتر و مقدار کلروفیل b در طول موج ۶۵۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت و به کمک فرمول لیچن تالر و ولبرن بر اساس میلی‌گرم کلروفیل در گرم برگ خشک محاسبه شدند (۳).

بر مبنای معادلات ۲و ۳ :

$$Chl.a\ (mg\ ml^{-1}) = 15.65(A_{666}) - 7.340\ (A_{653})$$

$$Ch.b\ (mg\ ml^{-1}) = 27.05(A_{653}) - 11.21(A_{666})$$

$$Carotenoids = 100(A470) - 3.27(mgchl.a) - 104(mg\ chl.b) \div 227$$

A میزان جذب در طول موج مورد نظر می‌باشد.

داده‌های حاصل با نرم‌افزار Minitab تجزیه و تحلیل شده و میانگین‌های آنها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج آزمایش حاضر اثر غلظت اسید هیومیک بر صفات مورفولوژی و فیزیولوژیک نشاء اسفناج معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) بود (جدول ۱). صفات تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ، ارتفاع بوته، تاج پوشش و سطح برگ در تیمار غلظت ۳ میلی لیتر نسبت به شاهد (غلظت صفر) به ترتیب ۲۱، ۵۹، ۱۰۷، ۷۵، ۱۰۸ و ۴۵ درصد افزایش نشان دادند. همچنین بین غلظت ۳ و ۶ میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). این بیانگر این موضوع بود که صفات مذکور تحت تاثیر اسید هیومیک قرار گرفتند ولی افزایش غلظت تأثیری معنی‌داری در افزایش صفات مذکور نداشت. مواد هیومیکی به صورت غیر مستقیم از طریق فراهم آوردن عناصر معدنی و اغلب کم مصرف برای ریشه، بهبود ساختمان خاک و در نتیجه افزایش نفوذپذیری بستر به آب و هوا، افزایش جمعیت میکروبی خاک از جمله میکروارگانیسم‌های مفید افزایش تبادل کاتیون (CEC) و توانایی بافر کردن pH بستر یا محلول غذایی و غیره باعث افزایش حاصلخیزی خاک می‌شوند (۲۵). افزایش تعداد برگ و صفات یاد شده در مراحل ابتدایی رشد گیاهچه احتمالاً به دلیل گسترش سریع سیستم ریشه‌ای گیاه در غلظت‌های زیاد اسید هیومیک می‌باشد، که این خود منجر به افزایش جذب بیشتر عناصر غذایی، رشد بهتر گیاه و به دنبال آن افزایش تعداد برگ و دیگر صفات وابسته به برگ شود. در آزمایشی (۲۰) غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک رشد ریشه جعفری و فلفل را افزایش داد و تعداد برگ، سطح برگ، ارتفاع گیاه به طور قابل ملاحظه‌ای در گلدان‌های حاوی اسید هیومیک افزایش نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. شاهسون مارکده و چمنی (۲۴) نیز نتایج مشابهی را در مورد گل رز گزارش کردند. ارتفاع بوته رازیانه و زیره سبز در تیمار محلول‌پاشی اسید هیومیک حدود چهار درصد بیشتر از تیمار عدم محلول‌پاشی بود (۱۹). اسید هیومیک از طریق اثرات هورمونی و با تاثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و با قدرت کلات‌کنندگی و افزایش جذب عناصر غذایی، سبب افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (۱۸).

آیاز و گالسر (۶) در بررسی خود بر روی گیاه اسفناج نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک از طریق افزایش در غلظت نیتروژن سبب افزایش رشد و ارتفاع گیاه اسفناج می‌شود. در پژوهشی که عسگری و همکاران (۴) بر روی نعناع فلفلی انجام دادند مشخص شد که اسید هیومیک بر صفاتی مانند ارتفاع بوته، وزن خشک برگ، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد ماده خشک و تر تأثیر افزایشی معنی‌داری دارد. هیومیک اسید رشد گیاه را از طریق کلات مواد مغذی مختلف افزایش می دهد و دارای اثرات مفید در افزای رشد، تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی به علت دارای بودن ترکیبات هورمونی است. افزایش در تعداد برگ احتمالاً به دلیل گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه با کاربرد اسید هیومیک شده که خود موجب افزایش جذب بیشتر عناصر غذایی و رشد بهتر گیاه و به دنبال آن افزایش تعداد برگ می‌شود (شکل ۱).

بیشترین کلروفیل a (۸/۱ میلی‌لیتر در گرم برگ تازه)، کلروفیل b (۵/۲ میلی‌لیتر در میلی‌لیتر در گرم برگ تازه)، کاروتنوئید (۱/۷ میلی‌لیتر در میلی‌لیتر در گرم برگ تازه) و زیست‌توده (۱۵۰ میلی‌گرم) در غلظت ۳ میلی‌لیتر و کمترین آن‌ها در غلظت صفر بود (شکل ۲). بیشترین مقدار شاخص کلروفیل (۱/۷۴ میلی‌لیتر در میلی‌لیتر در گرم برگ تازه) نیز در غلظت ۶ میلی‌لیتر و کمترین آن در غلظت صفر بود. اسید هیومیک با افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کل) (۲۷) و سطح برگ یا همان ظرفیت فتوسنتزی باعث افزایش زیست‌توده اسفناج شد. در مطالعه حیدری و همکاران (۱۲) کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر محتوای کلروفیل a و b موثر معنی‌دار بود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت داشت. اسید هیومیک بطور مستقیم و غیرمستقیم بر رشد گیاه موثر است. بصورت غیر مستقیم یعنی شرایط شیمیایی و بیولوژی خاک را بهبود می‌دهد. در حالی که به طور مستقیم، محتوای کلروفیل گیاه، تنفس و پاسخ‌های هورمونی گیاه را تسریع می‌کند (۲۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کاربرد غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و زمان کاربرد آن بر صفات کمی و کیفی اسفناج

Table 1- ANOVA (mean of squares) for the effect of different concentrations of humic acid and its application time on quantitative and qualitative traits of spinach.

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	تعداد برگ Number of leaves	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	ارتفاع بوته Plant height	تاج پوشش Canopy	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoids	سطح برگ Leaf area	وزن خشک Dry weight
غلظت Concentration	2	3.85^{**}	543^{**}	9.5^{**}	3.6^{**}	81.5^{**}	159^{**}	27^{**}	12.6^{**}	0.64^{**}	33^{**}	48906^{**}
زمان کاربرد Application time	1	0.06^{ns}	56.5^{ns}	0.4^{ns}	0.11^{ns}	12^{ns}	1.5^{ns}	0.3^{**}	31^{**}	2.5^{ns}	30^{**}	59211^{**}
غلظت× زمان کاربرد Concentration ×Application time	2	0.7^{ns}	111^{**}	1.7^{**}	0.57^{**}	15.8^{**}	13.4^{**}	17^{**}	21.5^{**}	0.07^{**}	3.5^{**}	11677^{**}
خطا Error	30	0.4	8.6	0.4	0.08	1.3	2	0.06	0.04	0.01	0.08	398
کل Total	35											
ضریب تغییرات CV (%)		10.7	9.9	16.2	17.6	12.5	13.3	3.5	4.4	6.3	3.2	17.3

ns، ** و *به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, **, * non-significant, significant at 1% and 5% of probability levels, respectively.

جدول ۲- اثر متقابل غلظت × زمان کاربرد اسید هیومیک بر برخی خصوصیات نشاء اسفناج

Table 2– Interaction effect of concentration ×time of humic acid application on spinach transplant characteristics.

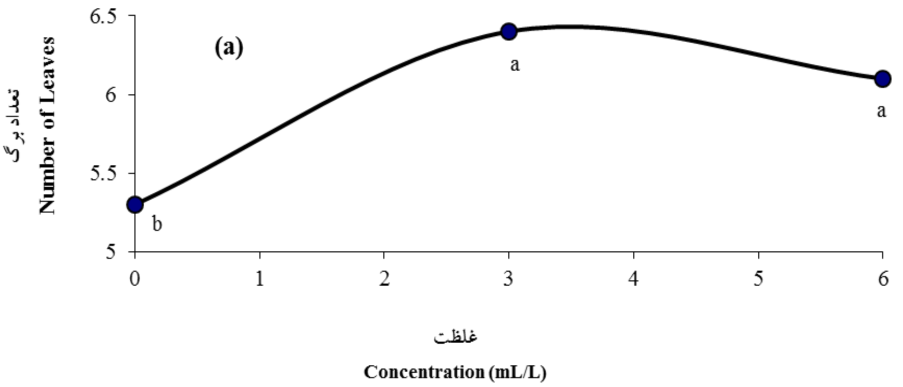
غلظت اسید هیومیک **Humic acid Concentration ($mL\ L^{-1}$)**	زمان کاربرد **Application time (week)**	شاخص کلروفیل **Chlorophyll Index**	طول برگ **Leaf length (cm)**	عرض برگ **Leaf width (cm)**	ارتفاع بوته **Plant height (cm)**	تاج پوشش **Canopy (cm^2)**	کلروفیل a **Chlorophyll a ($mg\ g^{-1}$)**	کلروفیل b **Chlorophyll b ($mg\ g^{-1}$)**	کارتنوئید **Carotenoids ($mg\ g^{-1}$)**	سطح برگ **Leaf surface (cm^2)**	وزن خشک **Dry weight (mg)**
0	----	17.3 b	2.6 d	0.8 c	5.3 c	6.3 d	4.3 d	2.7 c	1 d	7.4 e	46 c
3	یک هفته One week	32.5 a	4.2 ab	1.7 b	9.4 b	14.7 a	8.2 b	3.6 b	2 a	9 c	83 b
3	دوهفته Two weeks	32.6 a	5 a	2.3 a	11.9 a	12.3 bc	8.2 b	6.9 a	1.4 c	11.7 a	212 a
6	یک هفته One week	33.5 a	3.9 bc	1.8 b	9.4 b	11 c	6.4 c	3.2 b	1.9 a	8.3 d	98 b
6	دوهفته Two weeks	35.4 a	4.4 ab	1.9 b	11.8 a	12.8 b	9 a	6.7 a	1.6 b	10.5 b	210 a

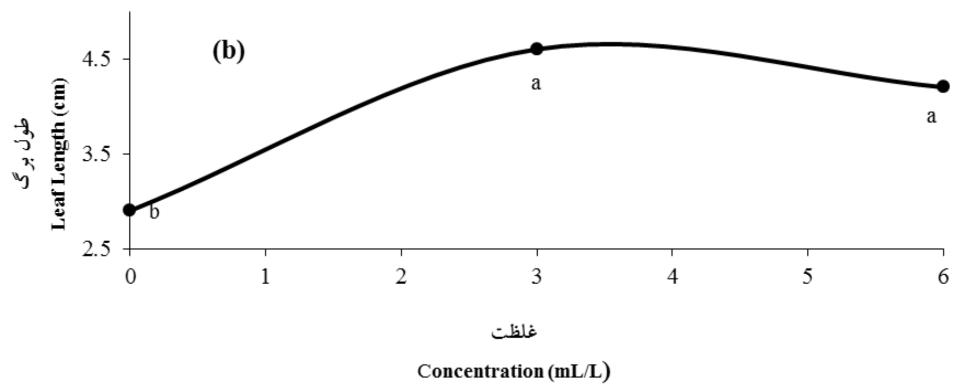
میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

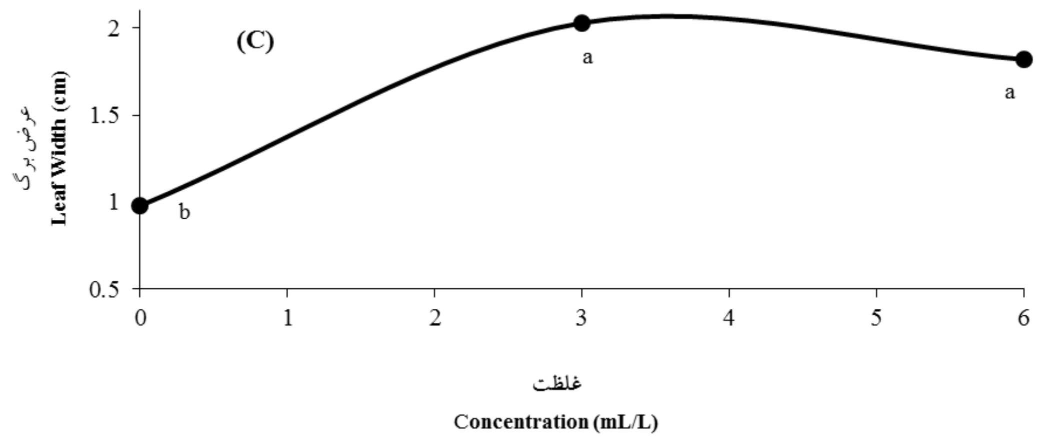
Means with the same letters in each column have not significant difference according to Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

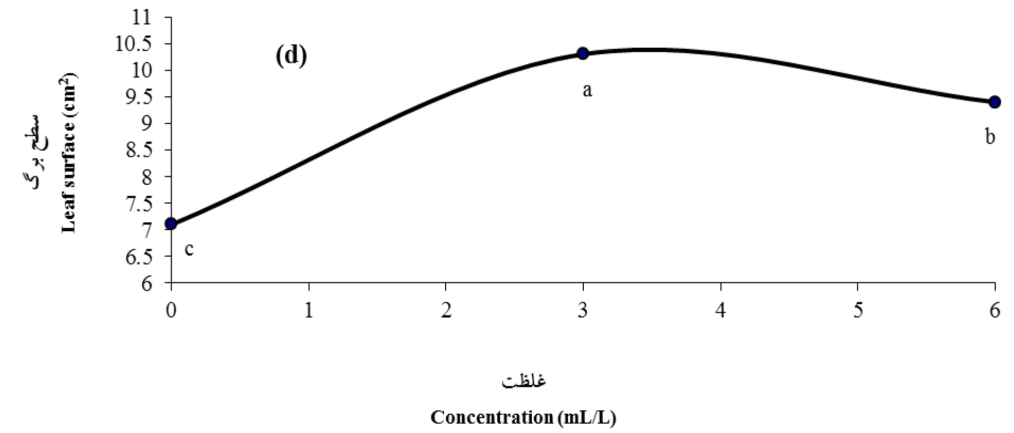
افزایش درمیزان کلروفیل می‌تواند به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه در نتیجه افزایش رشد رویشی گیاه و غلظت کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد باشد .در بین عناصر غذایی، نیتروژن سهم مهمی را در افزایش سبزینه گیاه دارد و با توجه به نتایج دالوند و همکاران (۹) مبنی بر افزایش قابل توجه جذب نیتروژن در حضور اسید هیومیک، می‌توان چنین استنباط کرد که ماده هیومیک مورد استفاده در این پژوهش، به خصوص در غلظت‌های بالاتر میلی‌گرم بر لیتر توانسته است باعث افزایش جذب عناصر مغذی، به خصوص نیتروژن، و به دنبال آن افزایش سبزینگی گیاه شود. همچنین آن‌ها اعلام کردند که اسیدهیومیک سبب افزایش رشد ریشه و میزان کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کارتنوئیدها در برگ‌ها می‌شوند.

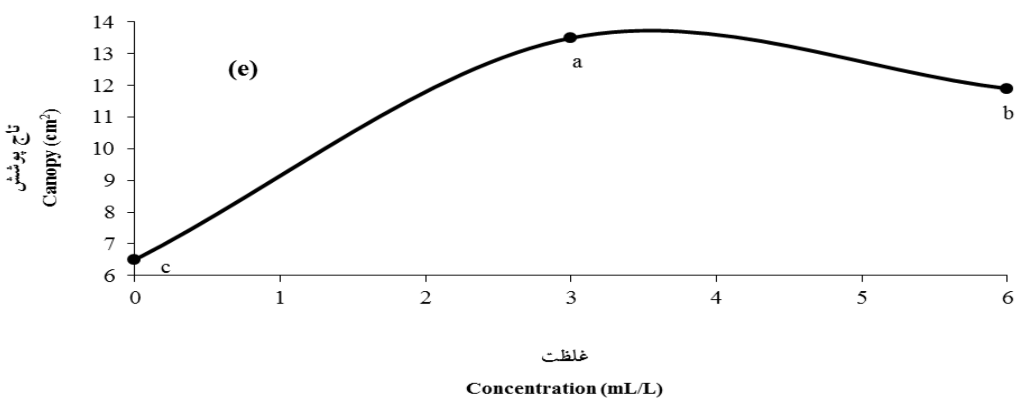
در غالب صفات بین غلظت‌های ۳ و ۶ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲). این بدان معنی است که افزایش غلظت تأثیر معنی‌داری بر صفات کمی و کیفی و زیست‌توده اسفناج نداشته است. این نتیجه با یافته‌های دیگر محققان مطابقت دارد (۲۷). نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک بر گیاه شب بو نشان داد که غلظت زیاد اسید هیومیک (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مراحل ابتدایی رشد گیاه تأثیر به سزایی نسبت به سایر غلظت‌ها و به خصوص شاهد، در افزایش تعداد برگ گیاه دارد. اما در مراحل بعدی رشد و نمو گیاه، غلظت‌های کمتر تأثیر بهتری نسبت به سایر غلظت‌ها داشت (۲۴).

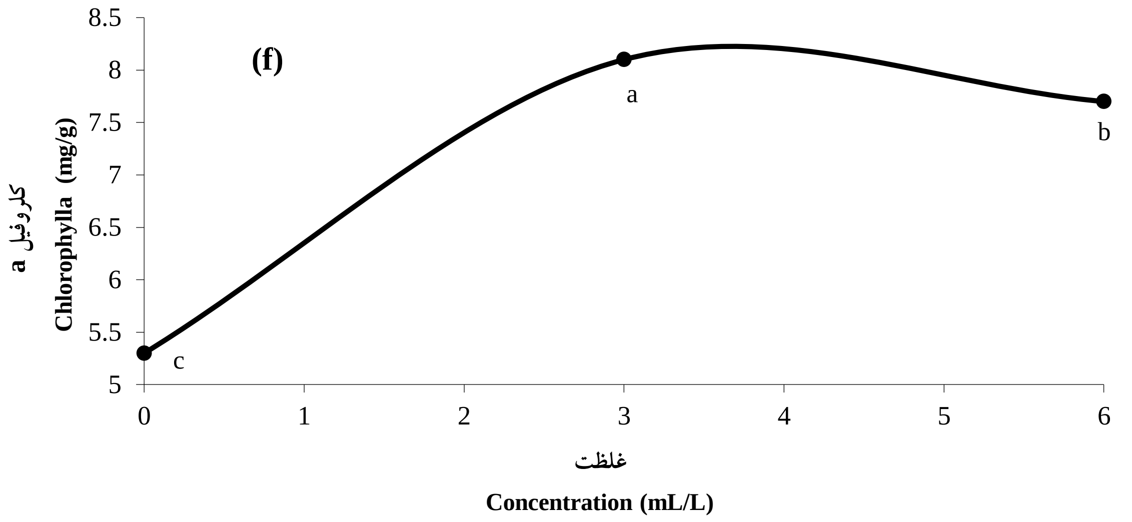


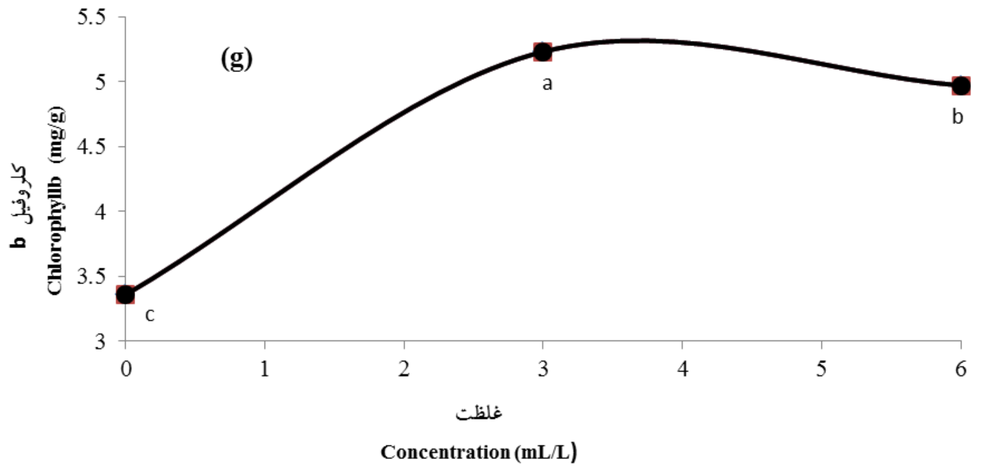


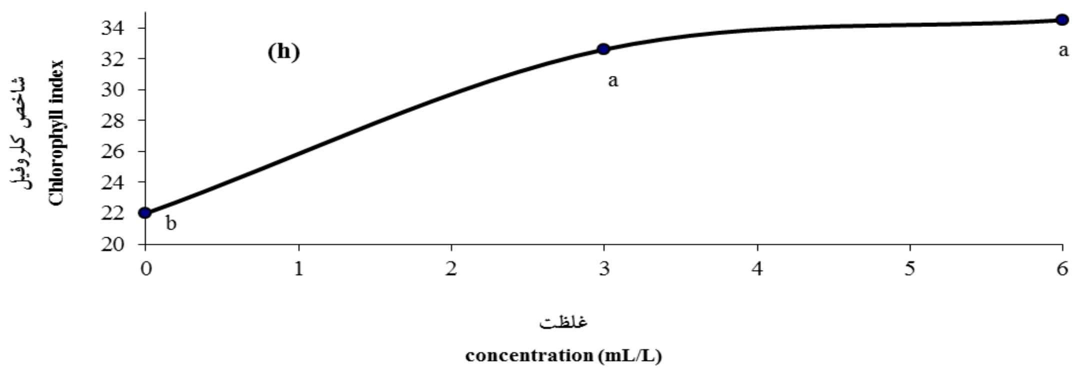

(C)
عرض برگ
Leaf Width (cm)
a
a
b
غلظت
Concentration (mL/L)

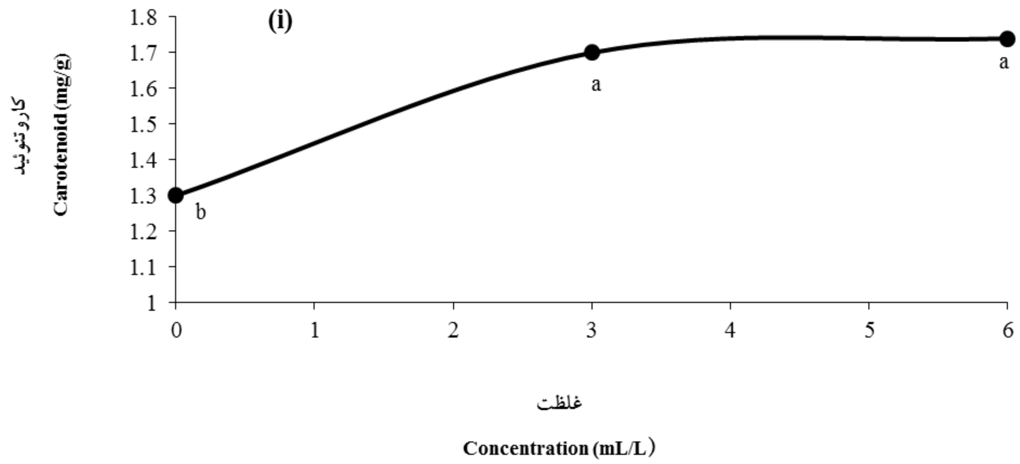

(d)
سطح برگ
Leaf surface (cm2)
a
b
c
غلظت
Concentration (mL/L)

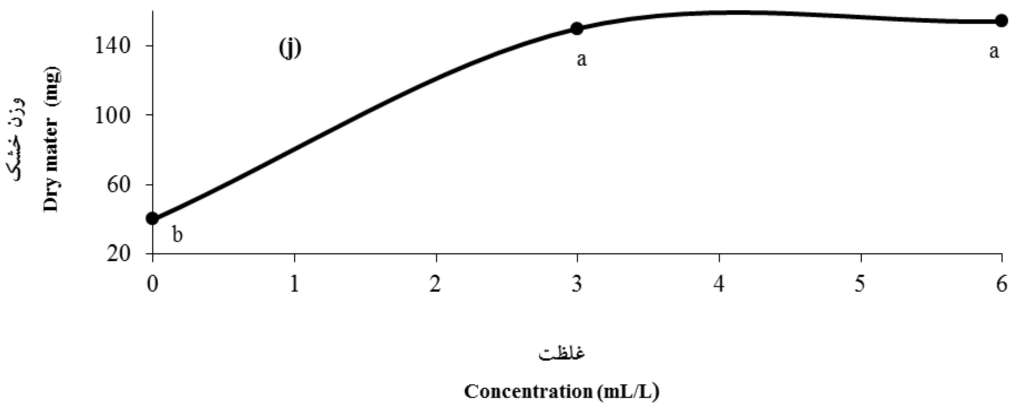

(e)
تاج پوشش
Canopy (cm2)
a
b
c
غلظت
Concentration (mL/L)


(f)
کلروفیل a
Chlorophylla (mg/g)
غلظت
Concentration (mL/L)


(g)
کلروفیل b
Chlorophyllb (mg/g)
غلظت
Concentration (mL/L)


(h)
شاخص کلروفیل
Chlorophyll index
غلظت
concentration (mL/L)



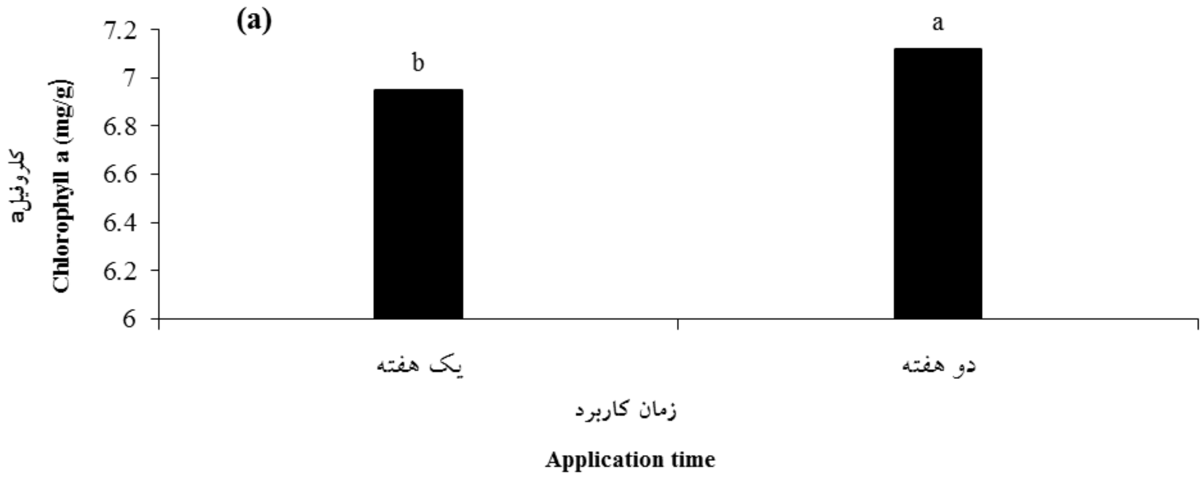


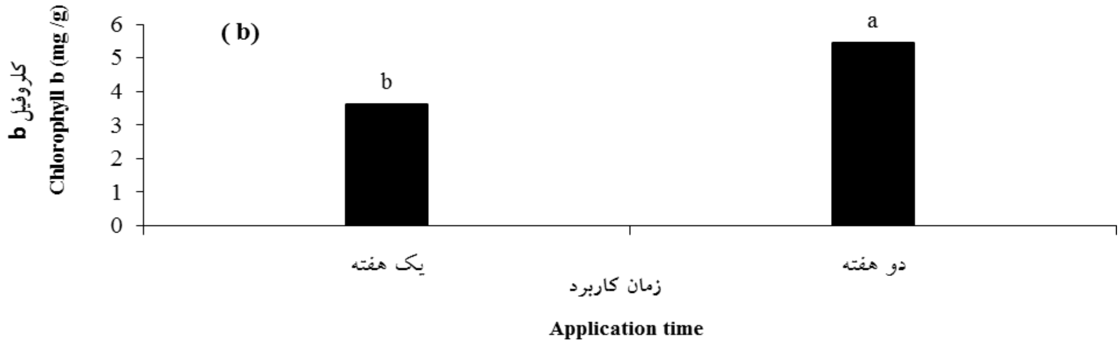
شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک بر تعداد برگ (a)، طول برگ (b) و عرض برگ (c)، سطح برگ (d)، تاج پوشش (e)، کلروفیل a (f)، کلروفیل b (g)، شاخص کلروفیل (h)، کاروتنوئید (i) و وزن خشک بوته (j) برنشاء اسفناج

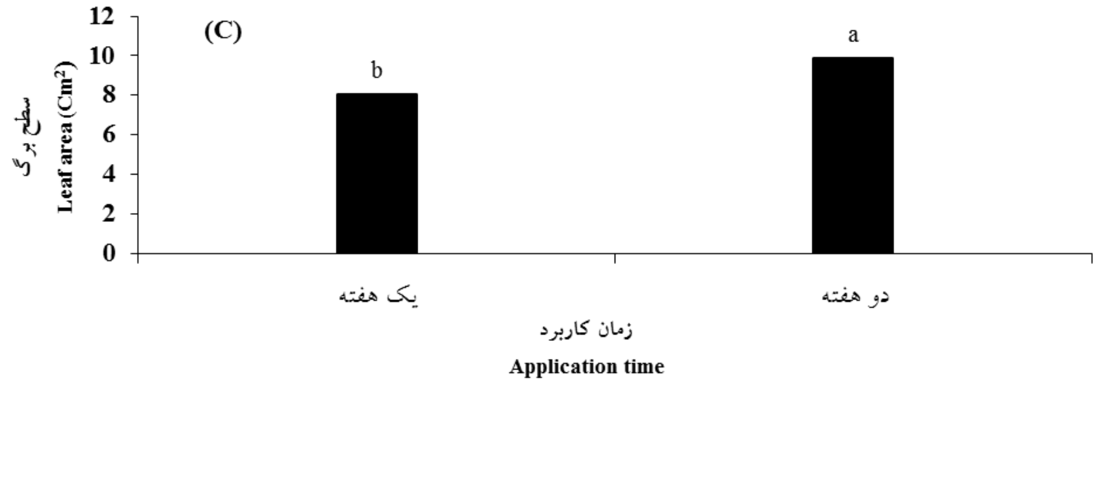
Figure 1- The effect of different concentrations of humic acid on leaf number (a), leaf length (b), leaf width (c), leaf area (d), canopy (e), chlorophyll a (f), chlorophyll b (g), Chlorophyll index (h), carotenoids (i) and dry weight (j) of spinach transplant (DMRT, *p≤0.05*)

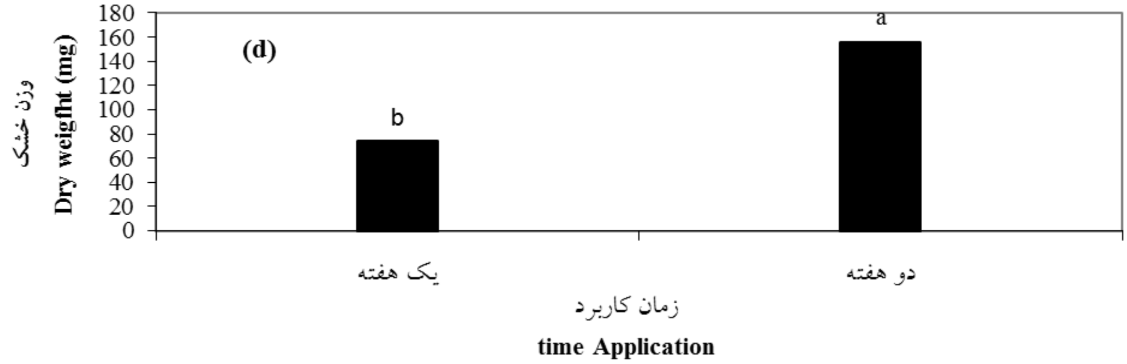
در غالب صفات زمان کاربرد دو هفته نسبت به یک هفته از مقادیر بالاتری برخوردار بود بطوریکه مقدار زیست‌توده اسفناج در زمان کاربرد دوهفته به مقدار ۱۱۰ درصد نسبت به یک هفته افزایش نشان داد (شکل ۲).

چمنی و همکاران (۷) در آزمایش خود نشان دادند که سطح پایین اسید هیومیک باعث افزایش صفات رشدی گیاه از قبیل تعداد برگ و میزان کلروفیل می‌شود. همچنین با توجه به نظر وی می‌توان علت تأثیر بهتر سطوح پایین اسید هیومیک در این گیاه را به دو علت جذب بهتر نیتروژن و فسفر در سطوح پایین اسید هیومیک و کارایی بهتر آن در شرایط نامساعد محیطی نسبت به سطوح بالای آن در گیاه پروانش باشد. در آزمایش حاضر نیز در زمان کاربرد دوهفته‌ای، گیاه سطح غلظت پایین‌تری از اسید هیومیک را دریافت نموده است و از زیست‌توده بالاتری برخوردار بود. بطور کلی بر اساس نتایج در غالب صفات بین کاربرد و عدم کاربرد اسید هیومیک اختلاف معنی‌داری وجود داشت. از طرفی افزایش غلظت باعث افزایش معنی‌داری در غالب صفات نشد. زیست توده نشاء اسفناج در زمان کاربرد یک هفته و دو هفته اختلاف زیادی داشت بطوری‌که مقدار زیست‌توده در زمان کاربرد دو هفته از مقادیر بالاتری برخوردار بود.


(a)
کلروفیل a
Chlorophyll a (mg/g)
7.2
7
6.8
6.6
6.4
6.2
6
b
a
یک هفته
دو هفته
زمان کاربرد
Application time


(b)
کلروفیل b
Chlorophyll b (mg /g)
6
5
4
3
2
1
0
b
a
یک هفته
دو هفته
زمان کاربرد
Application time


(C)
سطح برگ
Leaf area (Cm2)
12
10
8
6
4
2
0
b
a
یک هفته
دو هفته
زمان کاربرد
Application time



شکل ۲- اثر زمان کاربرد اسید هیومیک بر کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، سطح برگ (c) و وزن خشک (d) نشاء اسفناج

Figure 2– Influence of humic acid application time on chlorophyll a (a), chlorophyll b (b), leaf surface (c) and dry weight (d) of spinach transplant (DMRT, *p≤0.05*).

مقایسه میانگین‌های اثـر متقابـل غلظـت و زمـان کـاربرد اسـید هیومیک بر خصوصیات اسفناج در جدول ۲ آورده شـده اسـت. طبـق نتایج جدول کاربرد اسید هیومیک در هر دو غلظت استفاده شـده و در دو زمان کاربرد نسبت به شاهد افزایش معنـی داری داشـته اسـت. در بیشتر صفات اندازه گیری شده در تیمار فاصله زمانی کاربرد دو هفته-ای کود اسید هیومیک در اسفناج در هر دو غلظت (۳ و ۶ میلی‌لیتر در لیتر) نسبت به تیمار کاربرد یک هفته‌ای کود اسید هیومیـک افـزایش مشاهده شد. مواد اسید هیومیک می‌توانند به علت افزایش بیش از حد تولید هورمون‌های گیاهی، موجب کـاهش رشـد گیـاه شـود (۱۳). در پژوهش حاضر هم صفات اندازه‌گیری شده در تیمار دو هفته بیشـتر از تیمار هر هفته محلول‌پاشی بود (شکل ۲). بیشترین میزان طول بـرگ (۵ سـانتی‌متـر)، عـرض بـرگ (۲/۳ سـانتی‌متـر۲) و ارتفـاع بوتـه (۱۱/۹سانتی‌متر)، کلروفیل b (۶/۹ میلی‌گـرم در بـرگ تـازه)، سـطح برگ (۱۱/۷سانتی‌متر مربع) و زیست توده (۲۱۲ میلـی‌گـرم) در تیمـار غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر و زمان کاربرد هـر دو هفتـه مشـاهده شـد (جدول ۲).

صفات مورد بررسی در آزمـایش حاضـر بطـور غالـب همبسـتگی مثبت و معنی‌داری (P≤۰/۰۵) داشتند (جـدول ۳). همبسـتگی بـالای بین کلروفیل a، کلروفیل b، شاخص کلروفیل، تـاج پوشـش و سـطح برگ با زیست‌توده نشان داد که هر عاملی که سـبب افـزایش سـطح برگ شود تولید اسفناج را افزایش خواهد داد. از سوی دیگر همبستگی این صفات با زیست‌توده می‌تواند حاکی از اثر مثبت اسید هیومیک در آزمایش حاضر باشد. اسیدهیومیک موجب افزایش کلروفیـل و در پـی آن افزایش فتوسنتز و ماده خشک تولیدی در گیـاه مـی‌شـود و یـا بـه عبارتی می‌توان گفت که اسیدهیومیک با اثرات شبه هورمونی که دارد موجب افزایش رشد ریشه و بالطبع افزایش وزن زیست‌تـوده مـی‌شـود (۱۴ و ۲۶).

نتیجه‌گیری

اسید هیومیک جزء کودهای آلی است و اثر مثبت این ترکیـب بـر رشد سایر گیاهان زراعی و باغی توسط محققین به اثبات رسیده است. اسید هیومیک با بهبود جذب عناصر غذایی موجود در خـاک محیطـی ایده آل برای رشد گیاهان ایجاد می‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد استفاده از اسید هیومیک در غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر به عنـوان کـود آلی می‌تواند باعث بهبود صفات مورفوفیزیولوژیـک اسـفناج شـود. بـر اساس نتایج این تحقیق، کاربرد اسید هیومیـک باعـث افـزایش ۲۷۵ درصد زیست توده اسفناج نسبت به عـدم کـاربرد آن شـد. کاربرد کود آلی اسید هیومیک به‌جای کـود شـیمیایی می‌تواند هـم راسـتا بـا کشاورزی پایدار در کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی و تغذیـه سـالم سبزی‌ها برای جلوگیری از تجمع مواد شیمیایی در بدن انسـان مـوثر باشد.

جدول ۳- ضرایب همبستگی صفات ارزیابی شده در نشاء اسفناج

Table 3- Correlation coefficients of traits evaluated in spinach transplant

صفات Characteristics	تعداد برگ Number of leaves	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	ارتفاع بوته Plant height	تاج پوشش Canopy	سطح برگ Leaf area	شاخص کلروفیل Chlorophyll Index	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoids	زیست‌توده Dry weight
تعداد برگ Number of leaves	1										
طول برگ Leaf length	62**	1									
عرض برگ Leaf width	62**	87**	1								
ارتفاع بوته Plant height	65**	88**	89**	1							
تاج پوشش Canopy	59**	74**	75**	76**	1						
سطح برگ leaf areas	53**	73**	77**	84**	66**	1					
شاخص کلروفیل Chlorophyll Index	65**	73**	72**	80**	73**	58**	1				
کلروفیل a Chlorophyll a	57**	71**	73**	81**	78**	74**	80**	1			
کلروفیل b Chlorophyll b	40*	60**	64**	74**	43**	84**	53**	77**	1		
کارتنوئید Carotenoids	39*	ns	41*	34*	56**	ns	65**	48**	ns	1	
وزن خشک Dry weight	45**	63**	78**	80**	57**	90**	59**	75**	89**	ns	1

منابع

1- Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., and Mac Carthy P. 1985. Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. New York. USA: Wiley InterScience.

2- Aisha H.A., Shafeek M.R., Asmaa MR., and M. El-Desuki. 2014. Effect of Various Levels of Organic Fertilizer and Humic Acid on the Growth and Roots Quality of Turnip Plants (*Brassica rapa*). Current Science International 3(1): 7-14.

3- Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

4- Askari M., Habibi D., and Naderi G. 2012. Effect of vermicompost, plant growth, promoting rhizobacteria and humic acid on growth factor of Mentha piperata L. in central Province. Journal of Agriculture and Plant Breeding 4: 41-54.

5- Atiyeh R.M., Lee S., and Edwards C.A. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology 84: 7-14.

6- Ayas H., and Gulser F. 2005. The effect of sulfur and humic acid on yield components and macronutrient contents of spinach. Journal of Biological Sciences 5(6): 801-804.

7- Chamani E., Bonyadi M., and Ghanbari A. 2016. Effects of Salicylic acid and Humic acid on Vegetative Indices of Periwinkle (*Catharanthus roseus* L.). Journal of Horticultural Science 29(4): 631-641.

8- Chen Y., and Aviad T. 1990. Effects of humic substances on plant growth. PP. 161-186. Humic Substances in Soil and Crop Science: Selected Readings, SSSA and ASA, Madison, WI, USA.

9- Dalvand M., Solgi M., and Khaleghi A. 2018. Effects of foliar application of humic acid and drought stress on growth and physiological characteristics of marigold (*Taget erecta*). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 9(2): 67-80

10- Fatemi H., Ameri A., Aminifard M.H., and Arvii H. 2011. The Impact of Humic Acid on Essence and Growth Characteristics in Basil, First National Conference on New Issues in Agriculture, Saveh, Islamic Azad University, Saveh Branch.

11- Fallah M., Peyvast G., Olfati J., and Sammak B. 2014. Effects of chemical fertilization and organic fertilizer on spinach (*Spinacia oleracea* L.) yield and nitrate accumulation. Journal of Plant Production Research 21(1): 49-68.

12- Heidari M., and Khahlil S. 2014. Effect of humic acid and phosphorus fertilizer on seed and flower yield, photosynthetic pigments and mineral elements concentration in sour tea (*Hisbiscus sabdariffa* L.). Iranian Journal of Field Crop Science 45(2): 191-199.

13- Kafi M., Daneshvar Hakimi Meybodi N., Nikbakht A., Rejali F., and Deneshkhah M. 2013. Effect of humic acid and mycorrhiza fungi on some characteristics of “Speedy green” perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 4(1): 49-59.

14- Kauser A., and Azam F. 1985. Effect of humic acid on wheat seeding growth. Journal Environmental and Experimental Botany 25: 245-252.

15- Maccarthy P. 2001. The principles of humic substances. Soil Science 166: 738–751.

16- Mackowiak C.L., Grossl P.R., and Bugbee B.G. 2001. Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. Soil Science 65: 1744-1750.

17- Mobasser H.R., Pourmand H., Akbari Nodehi D., and Ghasemi M. 2016. Bio-refining effect of silicon on cadmium and lead in plant tissues of Spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of Soil Management and Sustainable Production 5(4): 175-184.

18- Nardi S., Pizzeghello D., Muscolo A., and Vianello A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry. 34: 1527-1536.

19- Nasiri D.A., Makarian H., Varnaseri G.V., and Salarian N. 2018. Investigation of effect of humic acid and vermicompost application on yield and yield components of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Applied Research in Field Crops 31(1): 93-113.

20- Norman Q., Stephen L., Clive A., and Rola A. 2003. Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants. International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology 47: 741-744.

21- Rostami G., Moghaddam M., Saeedi Pooya E., and Ajdanian L. 2019. The effect of humic acid foliar application on some morphophysiological and biochemical characteristics of spearmint (*Mentha spicata* L.) in drought stress conditions. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 12(1): 95-110.

22- Sadeghi Pour M. 2010. Nitrogen Use Efficiency of Spinach. Journal of Water and Soil 24(2): 244-253.

23- Sánchez-Sánchez A., Sánchez-Andreu J., Juárez M., Jordá J., and Bermúdez D. 2002. Humic substances and amino acids improve effectiveness of chelate FeEDDHA in lemon trees. Journal of Plant Nutrition 25: 2433-2442.

24- Shahsavan Markadeh M., and Chamani E. 2014. Effects of various concentrations and time of humic acid application on quantitative and qualitative characteristics of cut stock flower (*Matthiola incana* ‘Hanza’). Journal of

Science and Technology of Greenhouse Culture 5(3): 157-171.
25- Sharif M., Khattak R.A., and Sarir M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal drived humic acid on growth of maize plants. Communication in Soil Science and Plant Analysis 33: 3567-3580. (In Persian)
26- Souri M.K.F. 2018. Physiological characteristics of tomato seedlings under application of chemical and organic-based fertilizers. Journal of Soil and Plant Interactions 8(4): 67-77.
27- Talebi P., Jabbarzadeh Z., and Rasouli Sadaghiani M. 2017. Effect of application mode and different concentrations of humic acid on yield and content of nutrients uptake of *Rosa chinensis* var. Minima ‘Baby masquerade‘.Journal of Crops Improvement 18(4): 789-804.
28- Türkmen Ö., Dursun A., Turan M., and Erdinç Ç. 2004. Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. Acta Agriculturae Scandinavica 7: 168-174.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.4, Winter 2021, P. 663-678
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹، ص. ۶۷۸-۶۶۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Concentration and Time of Application of Humic Acid on Morpho-physiological Characteristics of *Spinacia oleracea*

M. Naseri[1*]- H. Arouiee [2]- M. Mohammadi[3]
Received: 25-04-2020
Accepted: 13-07-2020

Introduction: *Spinacia olerace* is the most important leaf vegetable of the Chenopodiacea family, which has a special place in human nutrition because of its variety of minerals and vitamins. Cultivation of this plant in Iran is several thousand years old and accordingly Iran is considered as the main place and a source of spinach in the world. Growth of plants is affected by genetics, environmental conditions, growing season, nutrients, and soil, harvesting method, temperature, intensity and quality of light. Among these factors, soil nutrients have a significant influence on plant growth and yield. Nowadays, the consumption of organic matter as fertilizer due to its high cost and limited availability is not sufficient and the major nutritional needs of plants are met by chemical fertilizers, which can lead to environmental problems and, over time, reduced yields. In this connection humic acid is a naturally occurring organic compound and contains 2% to 5% organic matter. Humic acid can be used to seedling nutrition and improve its quality and quantity. Given the recent use of organic acids such as humic acid to improve crops and horticulture, but little research has been done on transplant birth, this experiment was conducted to investigate the application of different levels of humic acid in irrigation water at the time of irrigation. Different effects and their effects on growth indices and spinach production were investigated.

Material and Methods: The present experiment was conducted to investigate the application of different concentrations of humic acid at different times and its effects on quantitative and qualitative indices of spinach in a factorial completely randomized design with three replications in research greenhouse at Torbat Heydariyeh University. Treatments consisted of three concentrations of humic acid (0, 3 and 6 ml/L) at two application times (one-week and two-week). The mean daily greenhouse temperature at the time of plant growth was 25°C and the mean nighttime temperature was 18°C, the average relative humidity was 60%. After seedlings were planted in the main pots at four-leaf stage, they were irrigated with humic acid (0, 3 and 6 ml/L) at different intervals once a week, twice weekly. The humic fertilizer used belonged to Green Seed Company, containing 24% humic acid and 3% folic acid and 2% potassium. Five weeks after treatment, the traits were measured. Transplant growth indices including number of leaves (by counting the number of shoots per plant), leaf length and width, leaf area, canopy, height, chlorophyll index, chlorophyll a, b, carotenoid and dry weight of each plant were determined.

Results and Discussion: Based on the results of this experiment, the effect of humic acid concentration on morphological and physiological traits of spinach transplant was significant. The highest leaf number (4.6) at 3 ml concentration and the lowest number (3.5) were at zero concentration. These traits were subjected to humic acid titer, but the increase in concentration had no significant effect on these traits. The increased number of leaves and traits mentioned in the early stages of transplant growth is probably due to the rapid expansion of the root system of the plant at high concentrations of humic acid, which in turn leads to increased nutrient uptake, better plant growth and subsequent growth. Leaf number and other traits become leaf dependent. The results showed that the highest chlorophyll a (1.8 ml/g fresh leaf), chlorophyll b (2.5 ml/ml fresh leaf), carotenoids (7.1 ml/ml). Fresh leaf g) and biomass (150 mg) at 3 ml concentration and the lowest at zero concentration. The highest chlorophyll index (74.1 ml/ml fresh leaf g) was also found in the concentration of 6 ml and the lowest was obtained from zero concentration. Humic acid increased spinach transplant biomass by increasing the amount of photosynthetic pigments and leaf area or the same photosynthetic capacity. In most of the traits, the two-week application time was higher than the one-week, so that spinach transplant biomass increased by 110% over the two-week application period. So that spinach transplant biomass was 156 at the two-week application and 74 mg at the one-week application. Based on the results of this experiment, humic acid application can improve the quantitative and qualitative traits of spinach transplant and its production.

Conclusion: Production of vegetable seedlings have an important role in the production and olericulture

1 and 3- Assistant Professor and Graduate Master, Department of Plant Production, University of Torbat Heydariyeh, respectively.
(*- Corresponding Author Email: M.Naseri@torbath.ac.ir)
2- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i4.86144

economy. Specializing in different activities in the vegetable production process will simplify the production process and increase efficiency. This means that the best conditions for seedling growth should be provided during transplanting. Application of humic acid organic fertilizer instead of chemical fertilizer can reduce environmental pollution in line with sustainable agriculture and healthy eating with vegetables to prevent the accumulation of chemicals in the human body to be effective. In this regard, the results of this study showed that using low humic acid as organic fertilizer can improve morphophysiological traits of spinach transplant.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll, Humus, Organic matter